



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Ciencias Biológicas
Escuela Académico Profesional de Microbiología y Parasitología

**Determinación de la respuesta inmune a péptidos de
superficie del merozoito de *Plasmodium vivax*,
candidatos a vacunas, en individuos de una zona de
baja endemividad de la costa norte del Perú**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Biólogo Microbiólogo
Parasitólogo

AUTOR

Luis Alberto LLACUA CARRASCO

ASESORES

PhD. G. Christian BALDEVIANO VIDALÓN
Mag. Débora ALVARADO IPARRAGUIRRE

Lima, Perú

2012

RESUMEN

Plasmodium vivax es la especie más común causante de malaria en América Latina y representa más del 90% de los casos de malaria en el Perú. En áreas endémicas, los individuos expuestos desarrollan cierto grado de inmunidad contra la malaria sintomática; sin embargo, se sabe muy poco sobre el desarrollo de inmunidad adquirida en zonas de baja endemicidad. El presente trabajo tuvo como objetivo determinar la seroprevalencia a tres péptidos sintéticos provenientes de proteínas del merozoito en una población con baja endemicidad a la malaria en la Costa Norte del Perú.

Se llevó a cabo un estudio trasversal en 5 comunidades del Distrito de Bellavista, Provincia de Sullana, Departamento de Piura en 2010. Se enrolaron individuos de dos grupos etáreos: 1) Niños entre 6 y 8 años de edad ($n=250$), y 2) adultos entre 18 y 61 años de edad ($n=247$). Se estandarizaron tres ensayos de ELISA para detectar anticuerpos IgG and IgM contra tres péptidos (PvMSP1(20-39), PvAMA1(21-42) y PvDBP(400-414)), los cuales fueron usados como marcadores serológicos a malaria. Además, se usaron encuestas para coleccionar información sobre riesgo de exposición a la malaria.

Se estandarizaron las condiciones óptimas para las tres pruebas de ELISA. Usando muestras controles positivas (pacientes semi-inmunes con infección *P. vivax*) y negativas (individuos provenientes de zonas no endémicas a malaria) se determinó que los anticuerpos IgG contra PvMSP1(20-39) presentan alta sensibilidad (86.7%) y especificidad (100%) para diagnosticar malaria. El análisis de la población en Bellavista reveló que casi una cuarta parte de los participantes (79/371; 21,3%) fueron seropositivos a por lo menos uno de los antígenos y el 8.7% (35/404) de los participantes fueron reactivos contra el péptido PvMSP1(20-39). Además, la seropositividad a alguno de los 3 péptidos fue significativamente mayor en individuos adultos comparado con niños ($p<0.05$). Asimismo, el porcentaje de seropositivos fue significativamente mayor en las comunidades de Bellavista y Pavletich, las cuales presentaron también la mayor prevalencia en relación a las otras cinco comunidades en donde se realizó el estudio. Los niños expuestos a campo abierto tuvieron mayor probabilidad de ser seropositivos para anticuerpos IgG contra el péptido PvAMA1(21-42) ($p<0.05$) y los adultos que tuvieron eventos de malaria el año pasado presentan mayor probabilidad a ser seropositivos para anticuerpos IgG específicos a los péptidos

PvMSP1(20-39) y PvAMA1(21-42) ($p < 0.05$). No se encontró asociación alguna entre los otros factores de riesgo a malaria evaluados y la probabilidad de ser seropositivos a los péptidos evaluados.

En resumen, los ensayos de ELISA basado en los tres péptidos estudiados podrían servir para identificar individuos con infección activa o infección pasada. Se necesitaran más estudios para determinar si la medición de estas respuestas inmunológicas podría ser útil para determinar riesgo de infección o transmisión de malaria en zonas de muy baja endemicidad que son blancos para campañas de eliminación de la malaria.

Palabras Clave: Plasmodium vivax, seroprevalencia, péptidos, ELISA, seropositivo, endemicidad

ABSTRACT

Plasmodium vivax is the most common species of malaria in Latin America and represents more than 90% of malaria cases in Peru. In endemic areas, the exposed individuals develop some degree of immunity against symptomatic malaria, however few are known about the development of naturally acquired immunity in low endemicity areas. This study aimed to determine the seroprevalence of three synthetic peptides from merozoite proteins in a population with low malaria endemicity in the North Coast of Peru.

A cross-sectional study was conducted in 5 communities Bellavista District, Sullana Province, Piura in 2010. Individuals were enrolled in two age groups: 1) Children between 6 and 8 years old ($n = 250$), and 2) Adults between 18 and 61 years old ($n = 247$). Three ELISA test were standardized to detect IgG and IgM antibodies against three peptides (PvMSP1(20-39), PvAMA1(21-42) and PvDBP(400-414)), which were used as serological markers to *vivax* malaria. In addition, surveys were used to collect information on risk of malaria exposure.

Optimal conditions were standardized for all three ELISA's tests. Using positive (semi-immune patients with *P. vivax* infection) and negative (individuals from non-endemic areas for malaria) control samples were determined that IgG antibodies against PvMSP1(20-39) have high sensitivity (86.7%) and specificity (100%) for malaria diagnosis. The analysis of Bellavista population develop that almost a quarter of the participants (79/371, 21.3%) were seropositives to at least one antigen and 8.7% (35/404) of the participants were reactive against PvMSP1(20-39). In addition, seropositivity to any of three peptides was significantly higher in adult compared to children ($p < 0.05$). Likewise, the percentage of seropositive was significantly higher in Bellavista and Pavletich communities, which also showed the highest prevalence in relation to the other five communities where the study was conducted. Children exposed to open field had more likely to be seropositive for IgG antibodies against peptide PvAMA1(21-42) ($p < 0.05$) and adults who had malaria events last year are most likely to be seropositive for specific IgG antibodies to peptides PvMSP1(20-39) and PvAMA1(21-42) ($p < 0.05$) and adults who had malaria events last year are most likely to be seropositive for specific IgG antibodies to the peptides PvMSP1(20-39) and

PvAMA1(21-42) ($p < 0.05$). No association was found between other risk factors for malaria evaluated and the probability of being seropositive to peptides evaluated.

In summary, ELISA assays based on the three peptides studied could serve to identify individuals with active or past infection. Further studies are needed to determine whether measurement of these immune responses could be useful to determine risk of infection or transmission of malaria in very low endemicity areas that are targets for malaria elimination campaigns.

Keywords: Plasmodium vivax, seroprevalence, peptide, ELISA, seropositive, endemicity